

DEPÓSITO CAPA POR CAPA DE POLÍMEROS IÓNICOS SOBRE SUSTRATOS DE POLIETILENO MODIFICADOS POR PLASMA

*C. Osorio¹, J. Morales¹, M.G. Olayo², G.J. Cruz²,
R. Montiel¹, E. Pérez³, H. Vazquez¹, R. Olayo¹*
jmor@xanum.uam.mx

¹*Departamento de Física, UAM-I, Av. Apdo. Postal 55-534, Iztapalapa, México, D.F.*

²*Departamento de Síntesis y Caracterización, ININ, Apdo. Postal 18-1027, CP 11801, México, D.F.*

³*Instituto de Física, UASLP, Apdo. Postal 78290, SLP, México.*

Resumen

La interacción entre un medio biológico y la superficie de un biomaterial depende de las propiedades superficiales como energía superficial, composición química, limpieza, textura y resistencia a la corrosión. En este trabajo se estudia la modificación de las propiedades superficiales de películas delgadas de polietileno (PE) comercial de bajo peso molecular. La modificación superficial se realiza en dos etapas. En la primera se produce, por medio de irradiación por plasma, una capa delgada de polipirrol (PPy) buscando que sobre la superficie se formen la mayor cantidad de grupos amina. En la segunda etapa se sintetizan capas delgadas de los polielectrolitos polialilamina hidroclicada(+) (PAH), poliestireno sulfonado(-) (PSS) y al final se busca la inmovilización de fosfatasa alcalina (FA), proteína que facilita la regeneración ósea. Para este trabajo se sintetizó PPy sobre sustratos de PE a diferentes potencias de descarga de plasma: 30, 50 y 100 W; con tiempo de reacción de 30 min, presión de 6×10^{-2} Torr y frecuencia de 13.5 MHz. A partir de la primera capa de PPy se autoensamblaron las siguientes muestras: PE-PPy-PAH-FA, PE-PPy-PSS-FA, PE-PPy-PAH-PSS-FA y PE-PPy-FA. Las capas autoensambladas se caracterizaron por espectroscopia infrarroja de atenuación total (AT-IR), espectroscopia de rayos-X y microscopía electrónica de barrido (SEM). El objetivo es la formación de biomateriales para aplicaciones óseo-dentales, de acuerdo a la posible absorción del óseo integrador FA.

Introducción

Un biomaterial es cualquier material sintético o natural que interactúa con un sistema biológico sin degradarlo. Puede actuar temporal o permanentemente reemplazando algún tejido, órgano o función del cuerpo. Los biomateriales están expuestos de modo temporal o permanente a fluidos corporales, aunque en algunas ocasiones pueden estar localizados fuera del propio sistema, como el caso de los materiales dentales que tradicionalmente han sido tratados por separado. El éxito de un biomaterial depende de tres factores muy importantes: compatibilidad, condición de salud del paciente y del procedimiento de implantación.

La biocompatibilidad de un implante está íntimamente ligada a sus propiedades superficiales. La interacción que ocurra en la interfase biomaterial-tejido celular es crucial para el buen funcionamiento del implante. Una forma de lograr una mejor interacción en la interfase del biomaterial es modificando su superficie a través de la adición de capas delgadas de polímeros con grupos funcionales que permitan una mejor interacción con las células que lo rodean.

El procesamiento por plasma puede ser aplicado a estos sistemas, ya que puede adaptarse para modificar sólo las propiedades superficiales de los materiales dejando invariantes las propiedades volumétricas. Adicionalmente, la polimerización por plasma se puede llevar a cabo en entornos libres de contaminantes químicos o patógenos. Durante el proceso, el polímero en formación forma capas delgadas sobre la superficie del sustrato, con lo que se puede modificar su naturaleza química para hacerla compatible con algún sistema biológico en particular.

Las superficies ricas en aminas son de particular interés en este trabajo debido a su influencia en la absorción de proteínas y en la adhesión celular, ya que provee sitios para la inmovilización de biomoléculas. A partir de una primera capa de polipirrol, rica en grupos amina, se pueden autoensamblar polímeros iónicos para lograr estabilidad de las cargas superficiales y, con ello, inmovilizar fosfatasa alcalina, la cual interviene en la regeneración del tejido óseo.

La técnica de autoensamblado de polímeros iónicos para depositar películas de espesor nanométrico fue presentada por Decher en 1991. Los polielectrolitos generan una protección electrostática, repeliendo objetos macromoleculares (proteínas o polisacáridos). Las capas se ensamblan por atracción electrostática entre cargas opuestas. Cuando se usan combinadas las técnicas de polimerización por plasma y el autoensamblado de polielectrolitos, el papel del plasma contribuye a funcionalizar al sustrato induciéndole una densidad de carga superficial. Esto se logra al irradiar el sustrato por una mezcla de partículas neutras y con carga eléctrica: electrones, iones, radicales, partículas excitadas, fotones, etc. A continuación, por medio de inmersión en una solución se deposita el polielectrolito, y a partir de ahí se puede formar un autoensamble.

Experimental

El reactor de polimerización por plasma se presenta de manera esquemática en la Fig. 1; consta de un tubo de vidrio (Pyrex) con longitud de 25 cm, 9 cm de diámetro externo y espesor de pared de 0.7 cm. En cada extremo del tubo se coloca una tapa de acero inoxidable con dos salidas. Las tapas tienen una perforación en la parte central para insertar un electrodo, que es una varilla circular, y en uno de sus extremos tiene un disco removible. Para la polimerización, la separación entre los electrodos es de aproximadamente 10 cm. Los compuestos utilizados en este trabajo fueron (Sigma-Aldrich): poliestireno sulfonado (PSS), polialilamina hidrociorada (PAH), fosfata alcalina (FA) y pirrol.

El polietileno utilizado, PE, es de baja densidad y de uso comercial. Las muestras de PE con dimensiones de 2 cm de largo por 1 cm de ancho se colocaron en la parte central del reactor. Antes de iniciar la polimerización, el reactor se purgó durante diez minutos para remover las impurezas iniciales, después se introdujo el pirrol para recubrir las muestras. Las condiciones al inicio de la polimerización fueron: 1.2×10^{-1} Torr, 14 W y 13.5 MHz. Para el autoensamblado de polímeros iónicos se prepararon soluciones de PSS y PAH con agua destilada con una concentración de 1 mg/ml. Con las mismas características se preparó la solución de FA.

A las muestras se les depositó por plasma una capa de polipirrol y después se sumergieron en la solución respectiva por 20 minutos, tiempo en el que ocurre la máxima adsorción de los polímeros iónicos. Después se lavaron con agua destilada entre cada cambio de solución. Las combinaciones realizadas fueron: PE-PPy-PSS, PE-PPy-PAH, PE-PPy-FA, PE-PPy-PSS-PAH, PE-PPy-PSS-FA, PE-PPy-PSS-PAH-FA y PE-PPy-PAH-PSS-FA.

Los análisis IR-ATR se hicieron con un espectrofotómetro Perkin-Elmer GX System con un accesorio de ATR de diamante Durasampl II marca Smith. Las micrografías se tomaron con un microscopio de barrido electrónico marca Philips XL-30.

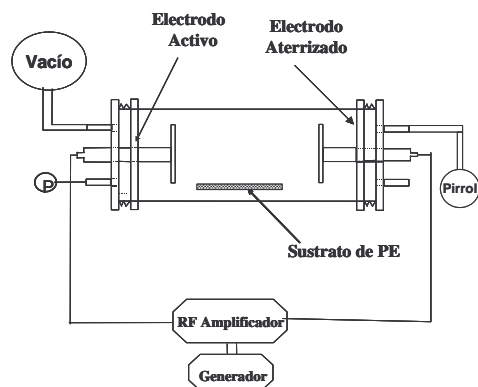


Fig. 1. Reactor de polimerización mediante plasmas de radio frecuencia

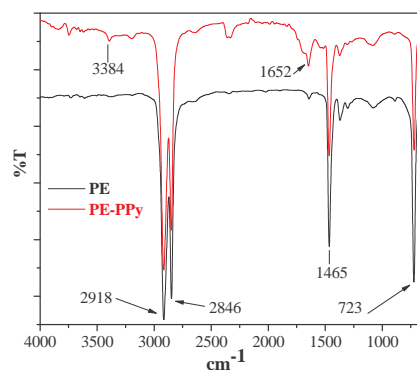


Fig. 2. Espectro T-IR de películas de PE y de PE recubierto con PPy.

Resultados y Discusiones

Espectroscopia de FT-IR por ATR

Las figuras 2, 3 y 4 presentan espectros FT-IR de las películas de polietileno con las diferentes capas que se adicionaron. La Fig. 2 contiene el espectro de polietileno de baja densidad, PE, y de PE recubierto con PPy. El espectro de PE muestra los picos característicos de este material. En el espectro de PE-PPy, además de los picos de PE, se observa que se incrementa la absorción en el intervalo de 3600 a 3300 cm^{-1} debido a la presencia de moléculas de agua en el material. La magnitud del pico en 1652 cm^{-1} sugiere dobles enlaces de oxígeno que pueden ser debido a la fuerte oxidación del PE y del polipirrol. La comparación entre los dos espectros indica que la capa de PPy que se deposita es muy delgada porque domina el espectro de PE, sin embargo la contribución del PPy aumenta la hidrofiliidad del PE, lo que favorecería crecimiento celular.

La Fig. 3 muestra los espectros FT-IR de PE-PPy y PE-PPy-FA. Los espectros sugieren que la FA se adhiere a la superficie de PPy, como lo muestra la absorción en 967 cm^{-1} que corresponde a interacciones del grupo O-P, provenientes de la FA, y por la absorción en 1128 cm^{-1} originada por los grupos C-O de la FA. La absorción en 1650 cm^{-1} corresponde a los grupos N-H del PPy.

Cuando termina la reacción de polimerización, sobre la superficie del material expuesta al plasma hay radicales libres, positivos y negativos, que pueden interactuar con algún polielectrolito o con la enzima de fosfatasa alcalina, que tiene grupos fósforo con cargas positivas y es posible inmovilizarlos sobre la superficie.

En la Figura 4 se presentan los espectros FT-IR de PE-PPy, PE-PPy-PSS-PAH-FA y PE-PPy-PAH-PSS-FA. Alrededor de 3415 cm^{-1} hay un ensanchamiento de la banda de absorción de los grupos N-H, provenientes de PAH, que está sobrepuesta con la señal que proviene de los grupos O-H del agua. Conviene recordar que tanto PAH, PSS y FA se prepararon en solución de agua destilada. En 1258 cm^{-1} se localizan las vibraciones de los grupos P=O y C-O originados en la FA. El pico que se encuentra en la posición 1100 cm^{-1} puede asociarse a los grupos O=S, provenientes del PSS. Finalmente, en 804 cm^{-1} se reporta la vibración de los enlaces asociados a los grupos C-Cl y C-O de PAH. Estos resultados sugieren que se logró el ensamblado de los polímeros iónicos y de la FA sobre la superficie.

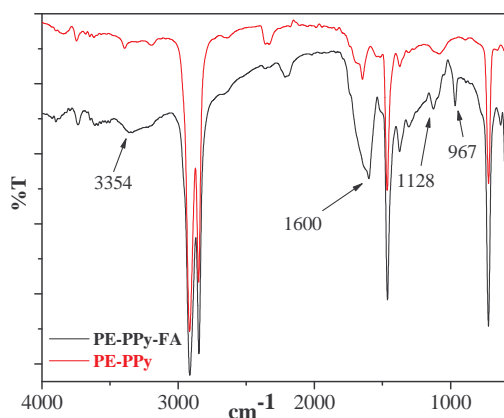


Fig. 3 - Espectro ATR de PE-PPy y de PE-PPy-FA.

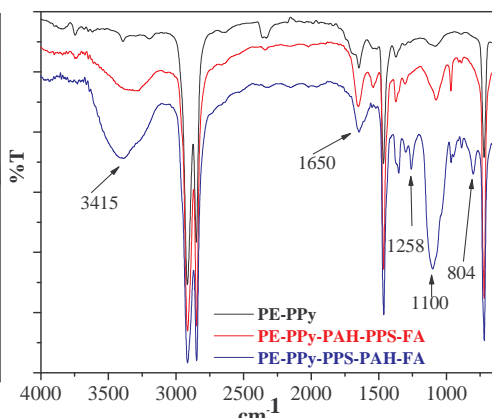


Fig. 4 - Espectros ATR de PE-PPy, PE-PPy-PSS-PAH-FA y PE-PPy-PAH-PSS-FA.

Morfología

Las figuras 5-10 presentan micrografías SEM de las películas de PE con los polielectrolitos sobre su superficie. La superficie del PE es lisa, con algunas marcas posiblemente debido al proceso de

extrusión, ver Fig. 5. En la Fig. 6 se observa el perfil de PE recubierto con PPy. Sobre la superficie se puede apreciar una película uniforme de recubrimiento (PPy). Las rupturas de la película pudieron ser originadas durante la manipulación de la muestra.

La micrografía de PE-PPy-FA, ver Fig. 7, muestra la formación de una capa muy delgada, posiblemente FA. Debajo de la última capa sobresale la rugosidad característica del PPy sintetizado por plasma. En la Fig. 8 se muestra la morfología de PE-PPy-PAH, que contiene trayectorias lineales que terminan en lugares donde la película se fracturó. No se aprecia la capa interior de PPy, lo que indica que el recubrimiento de PAH fue muy uniforme. La película muestra discontinuidades, posiblemente por la acción del agua.

La Fig. 9 muestra el depósito de una capa delgada de 600 nm de la acumulación de los diferentes polímeros que intervienen en el autoensamblado sobre la base de PE-PPy. La superficie contiene pequeñas estructuras esféricas que pudieron ser originadas por el PSS. En la Fig. 10 se aprecia nuevamente la formación de estructuras esféricas, aunque de mayor tamaño, sobre la superficie del autoensamble PE-PPy-PSS-PAH-FA.

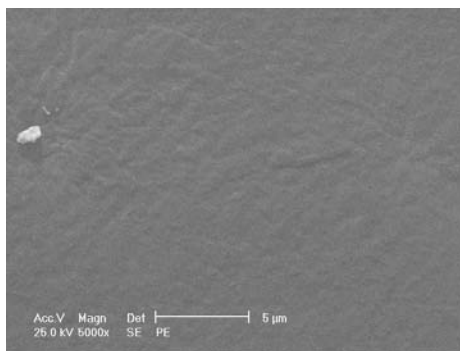


Fig. 5 – Morfología de PE.

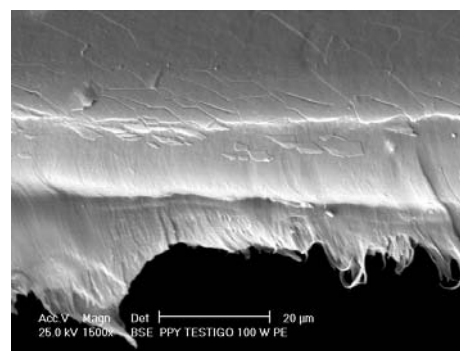


Fig. 6 – Morfología de PE-PPy.

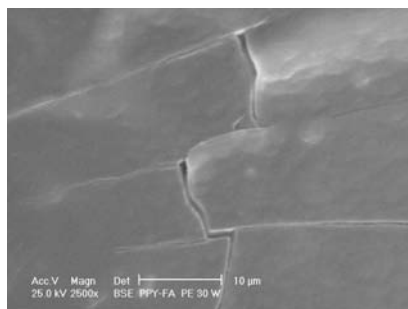


Fig. 7 – Morfología de PE-PPy-FA.

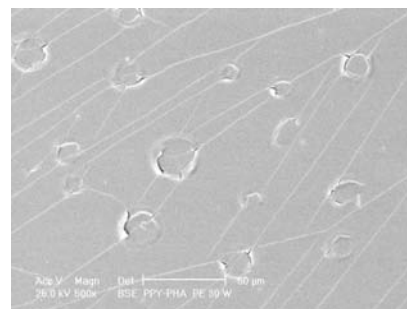


Fig.8 – Morfología de PE-PPy-PAH.

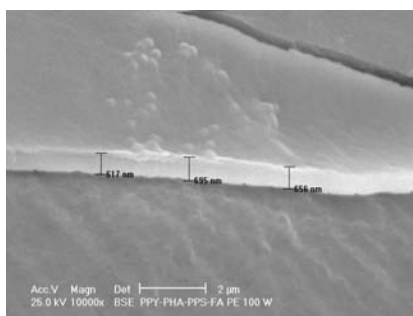


Fig. 9 - Capa del autoensamble PE-PPy-PAH-PSS-FA.

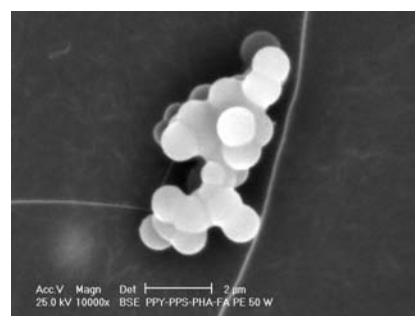


Fig. 10 – Formación de estructuras esféricas sobre el autoensamblado.

Conclusiones

El PE recubierto con PPy permite la adsorción de la enzima FA y de los polielectrolitos PAH y PSS. Esto puede tener aplicaciones importantes en biomateriales porque permite anclar de manera directa la FA, que es uno de los factores que promueven la proliferación y desarrollo de células del tipo osteoblastos en la regeneración de masa ósea. Además, al cambiar la carga superficial al sustrato modificado de PE-PPy se pueden anclar, no sólo la FA, sino otras proteínas que puedan ser atraídas por cargas electrostáticas. La presencia del PSS en el autoensamble parece que forma estructuras esféricas, las que, a su vez, pueden formar mallas tridimensionales con huecos del orden de nanómetros. Estos materiales pueden tener aplicaciones interesantes en el campo de cultivos celulares ó interacciones con medios biológicos.

Agradecimientos

Los autores agradecen al programa de mejoramiento del profesorado, PROMEP, por el financiamiento parcial al desarrollo del presente trabajo bajo el programa de Apoyo a la Incorporación de Nuevos Profesores de Tiempo Completo, Convenio PROMEP-UAM Núm. 33805, y al programa de Formación de Redes de Investigación PROMEP mediante el Proyecto "Inmovilización de Proteínas sobre Superficies Biocompatibles" (PROMEP/103.5/04/2278); Convenio PROMEP-UAM Núm. 33871.

Referencias

- [1] G. Kühn, I. Retzko, A. Lippitz, W. Unger, J. Friedrich *Surf. Coat. Technol.* 2001, 142, 494.
- [2] E. Johnston, D. Ratner. *J. Electron Spectroscopy.* 1996, 81, 303.
- [3] J. Beck, R. Jones and D. Short. *Polimer.* 1996, 37, 24.
- [4] Edward M. Liston. *Plasma modification of polymer surfaces*, 1991.
- [5] M.T. Van Os, B. Menges, R. Foerch, G. J. Vancso, W. Knoll. *Chem. Mater* 1999, 11, 3252.
- [6] D. S. Bodas, S. M. Desai, S. A. Gangal. *Appl. Surf. Sci.* 2005, 245, 186.
- [7] A. J. Benck, S. Candan, R. D. Short, A. Goodyear, N. St. J. Braithwaite. *J. Phys. Chem B.* 2001, 105-5730.
- [8] Y. Tran, P. Auroy. *Eur. Phys. J. E.* 2001, 5, 65.
- [9] P. Favia, R. D' Agostino. *Surf. Coat. Technol* 1998, 98, 1102.
- [10] U. Hayat, A. M. Tinsley, M. R. Calder, J. Clarke, *Biomaterials* 1992 Vol. 13 No 11.
- [11] Bhuvanesh Gupta Nishat Anjum. *Adv. in Poly. Sci.* 2003, 162, 35
- [12] David G. Castner, Buddy D. Ratner, *Biom. Surf Sci.* 2002, 500, 28.
- [13] Donald L. Elbert and Jeffrey A. Hubbell. *Annu. Rev. Mater.* 1996. 26, 365